

Таким образом, анализ литературных данных позволяет заключить, что система антиокислительной защиты тканей моллюсков может быть использована в качестве биомаркера загрязнения водных экотопов различными поллютантами.

Работа выполнена при поддержке БРФФИ (проекты Б05К-113 и Б08Р-075).

Литература

1. Garsia Martinez P., Winston G.W., Metash-Dickey C. et al. Nitrofurantoin-stimulated reactive oxygen species production and genotoxicity in digestive gland microsomes and cytosol of the common mussel (*Mytilus edulis* L.) // *Toxicol. Appl. Pharmacol.*– 1995.– V.131.– P.332–341.
2. Karnaukhova T.B., Korobova L.N., Reikh E.M. Superoxide dismutase activity as an index of the toxic action of pesticides // *Nauchnye Dokl. Vyss. Shkoly. Biol. Nauki.*– 1990.– № 5.– P.146–149.
3. Porte C., Sole M., Albaiges J., Livingstone D.R. Responses of mixed-function oxygenase and antioxidant enzyme system of *Mytilus* sp. to organic pollution // *Comp. Biochem. Physiol. C.*– 1991.– V.100.– P.183–186.
4. Nasci C., Nesto N., Monteduro R.A., Da Ros L. Field application of biochemical markers and a physiological index in the mussel, *Mytilus galloprovincialis* transplantation and biomonitoring studies in the lagoon of Venice (NE Italy) // *Mar. Environ. Res.*– 2002.– V. 54.– P.811–816.
5. Cossu C., Doyotte A., Jacquin M.C. et al. Glutathione reductase, selenium-dependent glutathione peroxidase, glutathione levels, and lipid peroxidation in freshwater bivalves, *Unio tumidus*, as biomarkers of aquatic contamination in field studies // *Ecotoxicol. Environ. Saf.*– 1997.– V.38.– P.122–131.
6. Cheung C.C., Zheng G.J., Lam P.K., Richardson B.J. Relationships between tissue concentrations of chlorinated hydrocarbons (polychlorinated biphenyls and chlorinated pesticides) and antioxidative responses of marine mussels, *Perna viridis* // *Mar. Pollut. Bull.*– 2002.– V.45.– P.181–191.
7. Lau P.S., Wong H.L. Effect of size, tissue parts and location on six biochemical markers in the green-lipped mussel, *Perna viridis* // *Mar. Pollut. Bull.*– 2003.– V.46.– P.1563–31572.
8. Regoli F., Hummel H., Amiard-Triquet C. et al. Trace metals and variations of antioxidant enzymes in Arctic bivalve populations // *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*– 1998.– V.35.– P.594–601.
9. Geret F., Serafim A., Barreira L., Bebianno M.J. Effect of cadmium on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the gills of the clam *Ruditapes decussatus* // *Biomarkers.*– 2002.– V.7.– P.242–256.
10. Geret F., Serafim A., Barreira L., Bebianno M.J. Response of antioxidant systems to copper in the gills of the clam *Ruditapes decussates* // *Mar. Environ. Res.*– 2002.– V. 54.– P.413–417.
11. Geret F., Serafim A., Bebianno M.J. Antioxidant enzyme activities, metallothioneins and lipid peroxidation as biomarkers in *Ruditapes decussates*? // *Ecotoxicology.*– 2003.– V.12.– P.417–426.
12. Chandran R., Sivakumar A.A., Mohandass S., Aruchami M. Effect of cadmium and zinc on antioxidant enzyme activity in the gastropod, *Achatina fulica* // *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.*– 2005.– V.140.– P.422–426.
13. Niyogi S., Biswas S., Sarker S., Datta A.G. Antioxidant enzymes in brackishwater oyster, *Saccostrea cucullata* as potential biomarkers of polyaromatic hydrocarbon pollution in Hoogly Estuary (India): seasonality and its consequences // *Sci. Total Environ.*– 2001.– V.281.– P.237–246.
14. Orbea A., Ortiz-Zarragoitia M., Sole M. et al. Antioxidant enzymes and peroxisome proliferation in relation to contaminant body burdens of PAHs and PCBs in bivalve mollusks, crabs and fish from the Urdaibai and Plenzia estuaries (Bay of Biscay) // *Aquat. Toxicol.*– 2002.– V.58.– P.75–98.

ВЛИЯНИЕ ФУЗАРИЕВОЙ КИСЛОТЫ НА ЛИПИДНЫЙ БИСЛОЙ МЕМБРАНЫ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

С.Г. Сидорова, В.А. Кудряшова

Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь
sidorova_sg@mail.ru

Возбудитель фузариозного увядания растений микромицет *Fusarium oxysporum* (Sacc.) Snyder and Hansen относится к некротрофам, которые прежде чем оккупировать какой-либо участок растения, убивают его своими токсичными выделениями. Механизм поражения сосудов растений, наряду с механической закупоркой их просветов мицелием и конидиями патогена-полифага, дополнен действием продуцируемых им гидролитических ферментов и

токсинов [1–3]. Многие вещества, в том числе и фузариевая кислота, обладают широким спектром токсического действия на растительный организм. Фузариевая кислота оказывает влияние на активность окислительно-восстановительных ферментов, изменяет проницаемость клеточных мембран, что приводит к нарушению осмотического давления и тургора клетки [2]. При декарбоксилировании в больном растении из фузариевой кислоты образуется 3*n*-бутилпиридин, токсическое действие которого в 100 раз больше. У устойчивых к увяданию сортов фузариевая кислота может метилироваться по атому азота в пиридиновом кольце с образованием амидной формы, нетоксичной для растения. Типичная устойчивость к фузариевой кислоте у двух сортов томата связана с разной скоростью ее детоксикации в этих хозяевах. Образование фузариевой кислоты не всегда коррелирует с вирулентностью изолятов гриба. Но при поражении чувствительных сортов различных растений (томатов, бобовых и др.) биосинтез этой кислоты приводит к изменению проницаемости для воды цитоплазматических мембран клеток. Чувствительность разных видов растений к фузариевой кислоте неодинакова, причем наиболее чувствительны к ней хлопчатник и томаты, наименее – бобовые (фасоль, горох) [4].

Фузариевая кислота не безвредна для организма животных и человека. Обладая относительно слабой токсичностью, она вызывает нарушения деятельности систем, регулирующих метаболизм адреналина в организме [5]. Фузариевая кислота влияет ингибирующе на митотическую активность клеток в корешках тритикале и вызывает повышение частоты хромосомных aberrаций, особенно асимметричного распределения хромосом. Эти изменения более выражены у чувствительных генотипов тритикале [6].

Фитотоксины представляют собой внеклеточные метаболиты и содержатся преимущественно в культуральной среде. Оптимальные условия для роста фитопатогена и его способности продуцировать токсины могут не совпадать. Состав оптимальной среды и длительность культивирования зависят от вида гриба. Образование наибольшего количества токсина обычно происходит при температуре от + 21 до + 28 °С. В культуре грибы продуцируют от следовых количеств до 2 г токсина на 1 л среды при оптимальных условиях культивирования [7]. В работе [8] указывается, что *F. oxysporum* v. *orthoceras* может синтезировать до 300–1200 мг/л фузариевой кислоты. Кроме того, установлена высокая прямая связь между содержанием данного токсина в фильтрате гриба и общей фитотоксической активностью патогена. Интенсивность биосинтеза фузариотоксинов находится в обратной зависимости с процессом спорогенеза. В исследованиях [9] отмечено, что в культуре *F. graminearum* в условиях активного спорогенеза сколь-нибудь значительный биосинтез токсинов невозможен. Вместе с тем, при интенсивном биосинтезе фузариотоксинов невозможна обильная споруляция.

Одним из важных свойств плазматической мембраны является ее способность пропускать одни вещества и быть барьером на пути движения других. Поэтому наиболее ранние изменения в ответ на действие внешних неблагоприятных факторов происходят, вероятно, на уровне плазмалеммы клетки [10]. Вещества, способные растворяться в липидной фазе мембраны, могут встраиваться в липидный бислой, модифицируя его структуру, нарушая взаимодействие между мембранными компонентами, образуя проницаемые для ионов и других веществ каналы. Нарушение барьерно-транспортных свойств плазматической мембраны под действием экзотоксинов фитопатогенных организмов лежит в основе их первичного воздействия на организм растения-хозяина. Вопросы, связанные с изучением модифицирующего влияния экзотоксинов фузариума на липидный бислой растительных клеток, остаются неразработанными и являются теоретически и практически значимым для поиска новых экологически безопасных приемов защиты от фитопатогенных организмов.

Материалом проведенного нами исследования служили 20 изолятов гриба *F. oxysporum* f. *sp. lycopersici*. Для изучения токсинообразующей способности изолятов применяли метод поверхностного культивирования на жидкой среде Чапека. Содержание фузариевой кислоты

в культуральной жидкости (КЖ) изолятов определяли по методике [8]. В качестве модельных объектов растительной клетки использовались культуры каллусной ткани *Nicotiana tabacum* сорта “Samsun”, а также гаплоидные растения табака, выращенные в стерильных условиях при температуре 25 °С. Коэффициенты проницаемости клеточных мембран к аммиаку вычисляли на основании сравнения динамики обесцвечивания окрашенного нейтральным красным клеток и протопластов *Nicotiana tabacum* в растворах, содержащих различные концентрации аммиака. Оценка коэффициента проницаемости мембраны к аммиаку (P_{NH_3}) проведена с использованием методики, приведенной в работе [11].

Исследования показали, что воздействие КЖ практически всех изучаемых изолятов фузариума приводило к снижению коэффициентов проницаемости липидного бислоя каллусных клеток к аммиаку. Причем эффект снижения P_{NH_3} , как правило, нарастал с повышением концентрации КЖ в экспериментальном растворе. Полученные нами данные по воздействию КЖ жидкостей на проницаемость липидного бислоя плазмалеммы к аммиаку достаточно хорошо согласуются и со степенью агрессивности изолятов гриба, т. е. выделения высокоагрессивных изолятов гриба приводили, как правило, к более значительным изменениям P_{NH_3} , нежели средне- и слабоагрессивных [12].

Исследование действия фузариевой кислоты на величину коэффициента проницаемости плазмалеммы к аммиаку показало, что в концентрациях 10^{-8} – 10^{-5} моль/л фузариевая кислота практически не изменяла проницаемости липидного бислоя плазмалеммы по отношению к NH_3 . И только при повышении ее концентрации до 10^{-4} моль/л наблюдалось падение величины коэффициента проницаемости плазмалеммы к аммиаку с $14,49 \times 10^{-6}$ см/с до $10,64 \times 10^{-6}$ см/с. Следует отметить, что в выделениях гриба фузариевая кислота содержится в среднем в концентрации 270–300 мкг/мл, что соответствует $1,6 \times 10^{-3}$ – $1,7 \times 10^{-3}$ моль/л. Таким образом, вклад фузариевой кислоты в величину снижения коэффициента проницаемости липидного бислоя к аммиаку под действием выделений гриба *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* будет незначительным, поскольку в экспериментах пробы КЖ разбавлялись по крайней мере в 50 раз, т. е. действующая концентрация фузариевой кислоты в среднем не превышала $0,85 \times 10^{-4}$ моль/л.

В ходе исследований нами не обнаружено корреляционной зависимости между величиной эффекта снижения коэффициента проницаемости мембраны к аммиаку и значением продукции изолятами *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* фузариевой кислоты. Вместе с тем установлено, что компоненты, содержащиеся в КЖ различных изолятов фузариума модифицируют барьерно-транспортные характеристики плазматической мембраны растительных клеток, а регистрируемые сдвиги величины коэффициента проницаемости плазмалеммы каллусных клеток и протопластов мезофилла листа *Nicotiana tabacum* к аммиаку отражают их воздействие на липидный бислой плазмалеммы.

Литература

1. Gaimann E. Fusaric acid as wilt toxin // Phytopathol.– 1957.– V.47, № 10.– P. 342.
2. Никуленко Т.Ф., Чканников Д.И. Токсины фитопатогенных грибов и их роль в развитии болезней растений // Обзорная информация. – М.: ВНИИТЭИагропром, 1987. – 53 с.
3. Общая и молекулярная микология / Ю.К. Дьяков, О.Л. Озерецковская, В.Г. Джавахия, С.Ф. Багирова. – М.: Общество фитопатологов, 2001. – 299 с.
4. Ballio A. Structure – activity relationships // Toxins in Plant Disease, e. R.D. Durbin, Acad. Press, N.-Y., 1981. – P.395–442.
5. Arntzen C. J. Induction of stomatal closure by *Helminthosporium maydis* pathotoxin // Plant Physiol.– 1973.– V.52, № 6.– P.569–574.
6. Лупашку Г.А. Специфичность экспрессии фузариозоустойчивости у некоторых зерновых культур на разных уровнях биологической организации растений // VII съезд Белорус. общ-ва генетиков и селекционеров: Тез. докл., Горки, 16–19 июля 1997 г. – Минск, 1997.– С. 73.
7. Fusarium mycotoxins (fumonisins, nivalenol, and zearalenone) and aflatoxins in corn from Southeast Asia. Yamashita Akihiro, Yoshizawa Takumi, Aiura Yusuke e. a. // Biosci. Biotechnol. And Biotechol.– 1995.– V.59, № 9.–

Р.1804–1807.

8. Половинко Г.П. Накопление фузариевой кислоты различными видами грибов рода *Fusarium* и их фитотоксические свойства // Микробиологич. журнал. – 1979. – Т. 41, № 5. – С.504–508.
9. Роль дезоксиниваленолан на ранней стадии развития *Fusarium graminearum* Schwabe / Д.И.Чкаников, Г.Д. Соколова, Г.А. Девяткина и др. // Микол. и фитопатол. – 1999. – Т.31, вып. 2. – С.78–83.
10. Юрин В.М., Кудряшов А.П. Индуцируемые пестицидами модификации транспортно-барьерных свойств плазматической мембраны клеток харовых водорослей // Озерные экосистемы: биологические процессы, антропогенная трансформация, качество воды. Матер. II междунар. науч. конф. Минск–Нарочь, 2003. – С.221–224.
11. Кудряшов А.П., Ониани Д.А., Юрин В.М., Яковец О.Г., Кудряшова В.А. Оценка проницаемости плазматической мембраны для атразина на основе динамики ингибирования транспорта аммония внутрь клеток *Nitella flexilis* // Ксенобиотики и живые системы, Матер. 2 междунар. научн. конф. – Минск. – 2003. – С.152–155.
12. Кудряшова В.А., Сидорова С.Г. Модификация липидного бислоя мембраны растительной клетки выделениями микромицета *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder and Hansen / Сигнальные механизмы регуляции физиологических функций: сб. науч. ст. – Минск: РИВШ, 2007. – 346 с. (С.131–135).

ТРАНСПОРТНЫЕ БЕЛКИ СЕМЕЙСТВА АВС В КЛЕТКАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ. СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Е.И. Слобожанина

*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь
sei@biobel.bas-net.by*

Все живые клетки экспрессируют мембранные белки, способные узнавать различные по составу и структуре органические соединения и затем с использованием энергии АТФ выводить их из цитоплазмы в наружную среду. Одной из важных и пока не решенных биологических проблем является регуляция активности защитных систем клетки – системы выведения из клетки токсичных соединений. Решение этой проблемы необходимо не только для биологии, но и для медицины, т.к. формирование множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) опухолевых клеток – одна из причин неудач химиотерапии. С каждым годом число известных транспортных мембранных белков, которые участвуют или могли бы участвовать в развитии МЛУ, увеличивается [1]. К белковому суперсемейству АВС (АТР Binding Cassette) в настоящее время относят около 300 мультилекарственных транспортеров эукариот, причем большое количество их (129) обнаружено у растений [2]. У человека к настоящему времени обнаружено 50 транспортных белков, относящихся суперсемейству АВС. В зависимости от их доменной организации (числа и сочетания трансмембранных и АТР-связывающих доменов) транспортные белки человека разделены на 8 подсемейств [2]. Доменная организация индивидуальных АВС-белков различна. Белки данного семейства имеют несколько трансмембранных доменов, например Р-гликопротеин (Pgp) содержит 12 гидрофобных трансмембранных участков. АТР-связывающие домены всех белков данного семейства имеют 30–40 % гомологии, однако при этом транспортные белки обладают необычно широкой субстратной специфичностью. Структурный анализ мультилекарственных транспортеров и других белков, распознающих множество веществ, позволил выдвинуть гипотезу, что белки-переносчики имеют большие гидрофобные сайты связывания и что они связывают свои субстраты скорее всего благодаря комбинации гидрофобного эффекта и электростатического притяжения, чем путем образования сети точных водородных связей и других специфических взаимодействий [3].

Физиологические функции известны пока не для всех белков семейства АВС. Подавляющее большинство этих белков переносят разнообразные вещества – от неорганических ионов до полисахаридов, аминокислот и белков [4]. Наиболее изученным из них является